Lane Medical Library

Aus der
Medizinischen Veterinärklinik der Universität Giessen.
Direktor: Professor Dr. H. Jakob.

1933

Ist die Methode nach Gregersen zum Nachweis von Blut in den tierischen Faeces brauchbar?

Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der veterinär-medizinischen Fakultät der Hessischen Ludwigs-Universität zu Giessen

vorgelegt von

GERHARD HEIM,
approb. Tierarzt aus Lemgo (Lippe).

Giessen 1933.

Druck von Rudolf Sayle, Mühlhausen i. Thür.

Gedruckt mit Genehmigung
der veterinär-medizinischen Fakultät zu Gießen.

Referent:
Professor Dr. H. Jakob.

Der lange drüsen-, nerven- und gefäßreiche, mit dem Organismus aufs innigste verknüpfte und die vegetative Existenz und das allgemeine Wohlbefinden bedingende Intestinaltraktus hinterläßt als Rückstand der Verdauung Exkremente. Diese Exkremente sind nicht nur Ballast, sondern enthalten noch eine Menge nutzbarer Speisereste, Residuen eines schlecht zubereiteten und eines häufig fehlerhaft zusammengesetzten Futters. Oft auch finden sich in ihnen noch pathologische Produkte. Die Untersuchung der Faeces ist nicht nur eine zweckmäßige Ergänzung der klinischen Untersuchung, sondern erteilt nicht selten für sich allein ausschlaggebende Aufschlüsse hinsichtlich der Diagnose und Therapie. Daher ist die genaue Kenntnis der Art und Weise des Kotabsatzes, die Häufigkeit desselben, die Menge und Beschaffenheit des Kotes von großer Bedeutung.

Da schon bei gesunden Tieren je nach der Tiergattung und Fütterung wesentliche Unterschiede bezüglich der Leichtigkeit oder Schwierigkeit des Kotabsatzes bestehen, so lassen sich nur höhergradige Störungen und Abweichungen von der Norm in diagnostischer Hinsicht verwerten.

Die Häufigkeit des Kotabsatzes ist schon unter normalen Verhältnissen je nach der Menge und Beschaffenheit des aufgenommenen Futters sowie nach der Ruhe oder Bewegung und Arbeit wechselnd.

Bei der Beurteilung der Kotmenge begegnet man auch schon bei gesunden Tieren wesentlichen Verschiedenheiten. Die größten Kotmengen werden wegen der Masse unverdaulicher Futterbestandteile von Pflanzenfressern entleert, die kleinsten von den Fleischfressern; zwischen beiden steht das Schwein.

Die Reaktion des Kotes hat wegen ihrer Unbeständigkeit nur eine untergeordnete Bedeutung. Sie kann bald alkalisch, bald neutral, bald sauer sein. Es richtet sich dies nach der Intensität der im Darm stattfindenden Gärungs- und Fäulnisprozesse. Nur stark saure Reaktion darf bei Pflanzenfressern als Zeichen des Darmkatarrhs angesehen werden. (Marek 27).

Außer Wasser finden sich in den Faeces: Schleim, Urobilin (bezw. Haematin), Cholalsäure und Cholesterin, von der in den Darm ergossenen Galle herstammend, ferner Fette und feste Fettsäuren, letztere teils frei, teils an Kalk und Magnesia zu Erdseifen gebunden, flüchtige Fettsäuren (Butter-, Capron- und Baldriansäure), Nukleïn, zuweilen Reste unverdauter Eiweiß-

stoffe. Diese letzteren findet man nicht selten bei den Herbivoren. Salze enthält der Kot der Tiere zu 2—8 %.

Die Farbe des Kotes wird bei gesunden Tieren bedingt durch die Farbstoffe der Nahrungsmittel (z. B. Chlorophyll der Pflanzen, Haemoglobin im Fleisch) und die Gallenfarbstoffe. Beim Pferd ist der Kot nach Heufütterung olivgrün, nach Grünfütterung braungrün oder grasgrün, nach Körner- oder Strohfütterung braungelb bis schmutzig-strohgelb. Ähnlich verhält es sich mit den Wiederkäuern. Der Kot der Fleischfresser ist bei reiner Fleischkost schwarz oder schwarzbraun (Haematin), bei Knochenfütterung weißlich, bei gemischter Kost lehmgelb. Der Kot der Schweine ist sehr wechselnd, lehmgelb, graugelb, gelbgrün usw. gefärbt. Der Geflügelkot ist je nach der Fütterung grünlich, gelblich oder bräunlich mit weißen Massen (Harnsäure) bedeckt. Der Kot saugender Jungen ist bei allen Tieren gelb.

Bei Krankheitszuständen ändert sich die Farbe. Bei den Pflanzenfressern ist der Kot im allgemeinen umso dunkler gefärbt, je länger er im Darm zurückgehalten wird. Bei hochgradigem Ikterus zeigt der Kot eine helle, tonähnliche Farbe. Weißliche oder grauweiße Darmentleerungen beobachtet man bei der sogenannten weißen Ruhr der Kälber; intensiv galligen oder gelben Kot bei heftigen Diarrhöen des Hundes. Wasserähnlich oder wässrig, mithin farblos oder nur schwach gefärbt ist der Kot bei profusen oder anhaltenden Diarrhöen. Schleimigen Kot findet man ebenfalls bei Durchfällen und bei Proctitis. Blutiger Kot in verschiedenen Nuancen (rein blutrot, braunrot, schokoladenfarben, schwärzlich, teerartig) wird beobachtet beim Austritt von Blut oder haemoglobinhaltigem Serum in den Magendarmkanal. Das Blut kann aus verschiedenen Abschnitten des Darmes stammen. Während bei Mastdarmblutungen Farbe und sonstige Beschaffenheit des Blutes noch fast unverändert sind, nimmt es umso mehr eine teerartige oder schokoladenähnliche Farbe an, je weiter vom Mastdarm entfernt es herstammt (Dickdarm, Dünndarm, Magen).

Nur wenn die Umwandlung des Blutfarbstoffes zu Haematin wegen zu schneller Passage des Inhalts unvollständig vor sich gegangen ist, kann auch aus den vorderen Darmabschnitten rotes Blut bis in die Faeces gelangen, (Schmidt - von Noorden 35). Andererseits kann bei verzögerter Kotentleerung in der Nähe des Afters langsam ausgetretenes Blut den Faeces ebenfalls teerartiges Aussehen verleihen oder in Gerinnseln dem Kot anhaften (Marek 27).

Beimengungen von Blut zum Kot kommen bei einer großen Anzahl von Krankheiten vor und sind diagnostisch und prognostisch von sehr verschiedenartiger Bedeutung. Man findet sie bei Verwundungen, Gefäßzerreißungen und Entzündungen des

Mastdarms, bei Mastdarmblutungen im Verlauf des Milzbrandes beim Rind, sehr häufig ferner bei der Staupe der Hunde, bei haemorrhagischer Darmentzündung überhaupt, bei toxischen Enteritiden (Kolchicum, Kanthariden, Euphorbium), bei Magen- und Darmgeschwüren, bei perforierenden Fremdkörpern im Magen des Rindes und Hundes, bei der Anwesenheit von Taenia echinococcus beim Hunde, Stronglyus armatus und Gastruslarven beim Pferde, bei der Coccidienruhr der Rinder, bei Rinder- und Schweinepest, Geflügelcholera, Tollwut, Morbus maculosus und verschiedenen anderen Krankheiten unserer Haustiere (Fröhner 15, Marek 27).

Bei den sogenannten okkulten Blutungen, d. h. den geringgradigen aber ständigen Blutbeimengungen zu den Faeces, ist an der Färbung des Kotes oft gar nichts Besonderes zu erkennen. Sie sind nur chemisch nachweisbar.

So leicht es ist, frisches Blut, zumal in größeren Mengen, im Mageninhalt und in den Faeces zu erkennen, so schwierig kann unter Umständen der Nachweis veränderten Blutes sich gestalten. Kleinere Quantitäten zersetzten Blutfarbstoffs entgehen nur zu leicht der Beobachtung und doch können auch sie manchmal große Bedeutung für die Diagnose erlangen.

Jede Methode zum Nachweis des Blutfarbstoffes, welche in den Händen des Praktikers brauchbar sein soll, darf:

1. keine großen Apparaturen und Material beanspruchen und muß also billig,
2. rasch ausführbar,
3. zuverlässig sein.

Die klinische Diagnostik verfügt über folgende Verfahren:

1. den mikroskopischen Nachweis roter Blutkörperchen,
2. den spektroskopischen Blutnachweis in den Faeces,
3. den chemischen Nachweis. (Weber 42.)

Das Blut erfährt während seines Durchtritts durch den Verdauungstraktus eine Reihe von chemischen Veränderungen. Die wichtigsten dabei aus dem Haemoglobin entstehenden Derivate sind Methaemoglobin und Haematin. Da diese sehr widerstandsfähig sind im Gegensatz zu den roten Blutkörperchen, so übertrifft der spektroskopische und chemische Nachweis von Blut in den Faeces, besonders der letztere, den mikroskopischen meist bei weitem an Genauigkeit (Sahli 32).

Die spektroskopische Reaktion wird bei der Untersuchung der Faeces auf Blut selten ausgeführt, obgleich der positive Ausfall dieser Reaktion die Anwesenheit von Blutfarbstoff absolut sicher beweist. Wie schon erwähnt, wird das Haemoglobin des Magen-Darmkanals zum Teil zu Haematin umgewandelt. Dieses

Haematin hat ein charakteristisches Spektrum, das man im Ätherextrakt des Kotes nachweisen kann. Besonders stark tritt der Absorptionsstreifen in Rot hervor. Aber mag immerhin der spektralanalytische Nachweis Blutungen des Magen-Darmkanals mit Sicherheit erkennen lassen, die Voraussetzung des Besitzes eines guten Spektralapparates entspricht nicht den Anforderungen, wie sie bereits oben als wünschenswert für den Praktiker bezeichnet wurden (Snapper 39, Weber 42).

Zum chemischen Nachweis des Blutfarbstoffes dienen vornehmlich die vier Proben, die mit Guajak, Aloin, Benzidin und Phenolphthalin angestellt werden. Alle vier beruhen auf dem gleichen Prinzip, nämlich auf der katalytischen Wirkung der Blutderivate, also auf der Fähigkeit des Blutes, aus sauerstoffreichen Verbindungen molekularen Sauerstoff abzuspalten und ihn bei Anwesenheit oxydabler Substanzen auf diese zu übertragen. Die unter Farbenerscheinungen auftretenden Reaktionen sind an den Eisengehalt des Blutes gebunden, versagen daher, wenn der Blutfarbstoff in Haematoporphyrin umgewandelt ist. Ihr positives Ergebnis kann durch viele andere Stoffe bedingt sein, deren Anwesenheit nicht immer mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann. Gegen Fehlresultate, die durch oxydierende Fermente bedingt sind, kann man sich dadurch schützen, daß man das Untersuchungsmaterial vor Anstellung der Probe aufkocht, wodurch diese Stoffe sicher unwirksam werden, während Blutfarbstoff auch nach dem Kochen wirksam bleibt, sofern er nicht durch koaguliertes Eiweiß umhüllt und dadurch an der Wirkung gehindert wird. Allerdings nimmt nach Grundmann (19) die katalytische Fähigkeit des Haemoglobins durch Kochen auch etwas ab. Auch nach dem Kochen geben dieselben Reaktionen Eisensalze, Jodide, Bleiazetat, Cuprisalze, salpetrige Säure u. a.

Der Kot der Fleischfresser gibt nach Schmidt-Scheunert (36) bei ausschließlicher Fleischfütterung stets positive Blutproben. Es muß also hier zunächst 2—3 Tage fleischfreie Nahrung gefüttert werden und nach Sahli (32) nach dem Aussetzen der Fleischfütterung bis zur Untersuchung mindestens zweimalige Kotentleerung erfolgt sein.

Als erste der chemischen Methoden sei die Guajakprobe von Weber (42) angeführt. Die Probe wird folgendermaßen angestellt: man zerreibt eine möglichst reichliche Probe Faeces mit Wasser, dem man etwa $^1/_3$ Volumen Eisessig zugesetzt hat, und schüttelt mit Äther aus. Von diesem sauren Ätherextrakt werden nach Klärung einige Kubikzentimeter abgegossen und mit 10 Tropfen Guajaktinktur und 20—30 Tropfen Terpentinöl versetzt. Bei Anwesenheit von Blutfarbstoff wird das Gemisch blau-violett, fehlt Blutfarbstoff, so wird es rotbraun, oft mit einem Stich ins Grünliche.

An dieser Vorschrift ist nun im Laufe der Jahre soviel verändert worden, daß beinahe nur noch das Gerüst übrig geblieben ist. So bestehen vielfach in der Literatur Vorschriften, nach denen der Kot einfach mit Eisessig und Äther, also ohne Wasserzusatz, behandelt wird. Des weiteren hat man bereits seit langem die gewöhnlich in den Apotheken käufliche und in der Tat wenig haltbare Guajaktinktur durch jedesmal frisch hergestellte Guajakharzlösungen in Alkohol oder Äther ersetzt (Ohly 29, Schumm 37, Benedikt 4). Außerdem ist als Katalysator statt des nicht immer zur Hand befindlichen alten (ozonisierten) Terpentinöls Wasserstoffsuperoxyd (3 %) empfohlen worden (Alsberg 3, Carlson 14). Endlich haben zuerst Rossel (31), dann von Kocziczkowski (22) und in besonders eingehender Weise Schumm (37) eine zweckmäßige Vorbehandlung der Faeces mit Äther und Alkohol zwecks Eliminierung der störenden Kotfarbstoffe empfohlen.

Auf die weiteren Modifikationen sei hier nicht näher eingegangen, da sie keine wesentlichen Vereinfachungen, vor allem aber keine Verbesserungen der Methode darstellen. Die eben genannten, vor allem aber die von Schumm sind nach Boas (7) unbedingt als Verbesserung der früheren Weberschen Vorschrift anzusehen. Trotzdem haben sie sich in der Praxis nicht eingebürgert, weil sie, abgesehen von den großen und kostspieligen Mengen von Alkohol und Äther, deren es hierzu bedarf, sehr viel mehr Zeit erfordern als die einfache Ausschüttelung des essigsauren Extraktes nach der ursprünglichen Vorschrift von Weber. Unangenehm ist auch das „Verschmieren" der Reagensgläser mit dem Terpentinöl.

Die Guajakprobe führt nach Boas (5) beim Kot nicht immer zu einem einwandfreien Resultat, weil die blaue Färbung bei den Untersuchungen der Faeces oft durch braune Nuancen verschleiert und undeutlich gemacht wird. Aus diesem Grunde empfiehlt er die von Klunge, Schäer und Rossel angegebene Probe mit Aloin. Da Rossel (31) der erste war, der die Brauchbarkeit der Aloinmethode studierte, ihre Vorzüge gegenüber der Guajakprobe betonte und schließlich darauf aufmerksam machte, daß es für den Blutnachweis von Bedeutung ist, die Faeces vor Anstellen der Probe fettfrei zu machen, wurde die Methode auch nach ihm „die Aloinprobe nach Rossel" genannt.

Die Probe wird folgendermaßen ausgeführt: 5 ccm Kot werden mit 20 ccm Äther extrahiert, um die Fette zu entfernen, welche nachher durch Emulsionbildung stören würden. Der Äther wird abgegossen. Dann werden dem Kot 3—5 ccm Essigsäure zugesetzt und die Mischung nochmals im Reagensglas mit Äther extrahiert. Der so gewonnene saure Ätherextrakt wird

zur Untersuchung benutzt. Nun bereitet man sich die Aloinlösung, indem man eine kleine Messerspitze voll Barbados-Aloin in ein Reagensglas bringt, etwa 3—5 ccm 60—70 % igen Alkohols zufügt und leicht schüttelt. Bei der Verwendung des Aloins vermeide man, daß dasselbe in der Luft zerstäubt, weil dieses Pulver beim Einatmen einen unangenehmen Reiz auf die Schleimhäute ausübt. Wenn man hierauf zu dem essigsauren Ätherextrakt erst 20—30 Tropfen verharzten Terpentinöls und dann 10—15 Tropfen der erwähnten Aloinlösung zusetzt, so färbt sich die Flüssigkeit, falls der Kot Blutfarbstoff enthält, bald hellrot und nimmt beim Stehenlassen eine kirschrote Färbung an. Falls kein Blutfarbstoff vorhanden ist, bleibt die Flüssigkeit 1—2 Stunden gelb und nimmt dann erst eine leicht rötliche Färbung an. Nach Boas kann man die Aloinprobe durch Zusatz von einigen Tropfen Chloroform erheblich beschleunigen bezw. deutlicher machen. Es bilden sich dann beim Umschütteln rötliche Tröpfchen, die als intensiv roter Niederschlag sich zu Boden setzen.

Da die Aloinprobe auf denselben Voraussetzungen beruht wie die Guajakprobe, kommen auch für sie dieselben Momente in Betracht. Es ist angezeigt, die Aloinlösung stets frisch anzuwenden, da sie sich schon nach 2—3 Stunden leicht rot verfärbt. Nach Brandenburg (13) kann das Terpentinöl durch verdünnte Wasserstoffsuperoxydlösung ersetzt werden.

Ein weiteres Verfahren zur Untersuchung der Faeces auf Blutfarbstoff haben im Jahre 1904 O. und R. Adler (2) angegeben, das man folgendermaßen ausführen soll: eine kleine Menge der zu untersuchenden Faeces wird mit etwas Wasser aufgeschwemmt. Man versetzt 3 ccm der unfiltrierten Aufschwemmung mit 2 ccm einer in der Wärme gesättigten alkoholischen Benzidinlösung und mit 2 ccm 3 %iger Wasserstoffsuperoxydlösung und fügt einige Tropfen Essigsäure hinzu. Bei Gegenwart von Haemoglobin tritt eine intensive Grünfärbung ein.

Die Probe ist einfach, sehr empfindlich und bei negativem Ausfall im allgemeinen eindeutig, sodaß sie sehr wohl geeignet ist, die Abwesenheit von Blutfarbstoff darzutun. Ein positiver Ausfall ist aber durchaus nicht eindeutig, da er auch durch andere in den Faeces vorkommenden Stoffe verursacht werden kann, so z. B. durch Kartoffeln, zerstoßene Erbsen, Bohnen, Gummi-Arabicum, Preßhefe, Milch, kalt hergestellte wässrige Auszüge von Hafergrütze, Weizenmehl, frischen Laubblättern usw. Auch Eiter, Schleim, Darmdetritus und Darmschleim, ferner Rhodansalze, Eisenoxydul, Kupferoxydul, Jodkalium, metallisches Eisen, Kupfer und Platin geben mehr oder weniger positive Reaktionen.

Man kann allerdings eine Reihe von Fehlerquellen dadurch ausschließen, daß man die Faecesaufschwemmung vor Anstellung der Probe kocht und wieder abkühlt. Dadurch geht aber ein

wesentlicher Vorzug des Adlerschen Verfahrens, nämlich die Einfachheit verloren, sodaß es dann doch richtiger erscheint, die Probe überhaupt, wie bei der Weberschen Methode mit Essigsäure-Ätherextrakt der Faeces auszuführen. Von dieser Überlegung ausgehend modifizierten Schumm und Westphal (38) die Probe in der Weise, daß sie den durch Ausschütteln mit Wasser gereinigten Essigsäure-Ätherextrakt mit 2 ccm Benzidinlösung und einigen Tropfen Essigsäure vermischten und dann vorsichtig 2 ccm 3%ige Wasserstoffsuperoxydlösung unterschichteten. Schumm (37) bemerkt, daß in dieser Form sich die Probe sehr gut eigne, „um zu beweisen, daß Blutfarbstoff nicht vorhanden sei". Ferner könne sie bei wissenschaftlichen Untersuchungen gute Dienste leisten, während sie für die allgemeine klinische Verwendung zu empfindlich erscheine und es bedenklich wäre, sie für praktische Zwecke zu empfehlen.

Der Ausfall der Reaktion selbst ist abhängig von dem Mengenverhältnis, in dem die einzelnen Reagentien zugesetzt werden. Weiterer Zusatz von Wasserstoffsuperoxydlösung kann eine entstandene Grünfärbung nachträglich zum Verschwinden bringen. Wendet man von vornherein einen Überschuß von Wasserstoffsuperoxydlösung an, so kann der Farbumschlag unter Umständen ganz ausbleiben. Deshalb empfehlen O. und R. Adler eine 3%ige Wasserstoffsuperoxydlösung. Was das Benzidin betrifft, so empfehlen Schumm und Westphal ein von Merck bezogenes Präparat, da ein solches 10 mal so wirksam ist, als ein frisch bezogenes anderer Herkunft. Die vorschriftsmäßig hergestellte Lösung, auch der sehr wirksamen Präparate, zeigte gelegentlich schon nach 5 Tagen eine deutliche Abnahme ihrer Wirksamkeit. Es kommt vor, daß ältere Benzidinlösungen an sich bei Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd und Essigsäure schon eine bläulich-grüne Färbung geben. Schumm und Westphal haben die Empfindlichkeit der Benzidinprobe an frisch defibriniertem Aderlaßblut geprüft und gefunden, daß 8 ccm einer Blutverdünnung von 1 : 200 000 sich durch diese Probe noch nachweisen ließen, während mittels der Guajakprobe dies nur noch in einer Verdünnung von 1 : 25 000 möglich ist. O. und R. Adler erhielten bei einer Blutverdünnung von 1 : 1 000 000 noch eine deutliche positive Reaktion mit Hilfe ihrer Benzidinprobe.

Auf der Suche nach einer möglichst einfachen, bequemen aber exakten Methode zur Untersuchung der Faeces auf Anwesenheit von Blutfarbstoff verzichteten Schlesinger und Holst (34) auf eine Vorbehandlung des Kotes zur Entfernung der Fette und Farbstoffe und versuchten, die aus deren Anwesenheit sich ergebenden Störungen in anderer Weise auszuschalten. Bei der außerordentlichen Empfindlichkeit der Benzidinprobe erschien ihnen dies nur dadurch möglich, daß sie eine ganz geringe

Menge Faeces zur Ausführung der Reaktion benutzten. Es war ferner die Fehlerquelle auszuschalten, welche in der Anwesenheit anderer oxydierender Stoffe, pflanzlicher oder tierischer Fermente, in den Faeces gegeben ist und die sämtlichen anderen bisherigen direkten Faecesblutreaktionen anhaftete. Die genannten Autoren griffen hier zu einem schon vielfach für ähnliche Zwecke benutzten Verfahren, nämlich zur Zerstörung der Fermente durch Hitze, indem sie vor Ausführung der Reaktion den verdünnten Kot aufkochten. Die Ausführung der Benzidinprobe in der von Schlesinger und Holst gewählten Form erfolgt nun folgendermaßen: man löst eine Messerspitze voll Benzidin in einem sauberen Reagensglase in 2 ccm Eisessig, schüttelt einige Male um und stellt es beiseite. Eine kleine, etwa erbsengroße Menge der zu untersuchenden Faeces wird mit einem reinen Glasstabe in ein sauberes, etwa zu $^1/_5$ mit Wasser gefülltes Reagensglas gebracht und durch rührende Bewegungen des Glasstabes in dem Wasser aufgeschwemmt. Dann wird das Glas durch einen Wattepfropf verschlossen und die Aufschwemmung über der Flamme einmal zum Aufkochen gebracht, was bei ruhigem Hineinhalten in die Flamme in wenigen Sekunden geschieht. Alsdann fügt man zu drei Tropfen dieser Aufschwemmung 2—3 ccm 3 %ige Wasserstoffsuperoxydlösung hinzu. Unter leichtem Umschütteln setzt man zu dieser Lösung 1—2 ccm Benzidinlösung, worauf bei Haemoglobinanwesenheit in einigen Sekunden eine grün bis dunkelblaue Färbung eintritt. Je stärker der Blutfarbstoffgehalt ist, desto mehr herrscht das Blau vor. Bei ganz minimalen Blutungen tritt der Farbumschlag etwas später und langsamer ein. Das Grün oder Blau der positiven Proben wandelt sich nach 5—15 Minuten in ein schmutziges Dunkelviolett um. Ist kein Haemoglobin vorhanden, so bleibt die Farbe der Probe unverändert, höchstens mit einem ganz schwachen Stich ins Rosarote, den das Reagens bisweilen nach längerem Stehen annimmt. Die negativen Proben unterliegen keiner weiteren Veränderung. Sie behalten über 24 Stunden dieselbe Farbe.

Wagner (41) meint, daß man bei Anwendung dieser Modifikation öfters im Unklaren bleibe, ob die Probe positiv oder negativ sei. Deshalb versuchte er einen anderen Weg. Er stellte sich dünne Objektträger-Blutpräparate her und goß auf diese Benzidin-Eisessig-Wasserstoffsuperoxydlösung und erhielt im Moment eine prachtvolle tiefblaue Färbung. Dann strich er von Teerstühlen bei sicher nachgewiesenem Ulcus mit einem Holzstäbchen etwas aus der Mitte der Faeces über einen sauberen Objektträger aus und goß hierauf ebenfalls die Benzidin-Eisessig-Wasserstoffsuperoxydlösung mit demselben Erfolg. Stets entstand ein prachtvolles Blau. So entstand die Benzidinprobe, die er als trockene oder besser als Objektträger-Benzi-

dinprobe bezeichnete. Um evtl. Oxydasen zu zerstören, hat Wagner den Stuhl auf dem Objektträger geglüht. Bei zahlreichen Untersuchungen hat er aber keinen Unterschied, ob geglüht oder nicht geglüht, feststellen können. Als Vorzüge dieser Objektträgermethode hebt Wagner hervor: sie ist außerordentlich rasch ausführbar und kann leicht öfters wiederholt werden. Die Herstellung eines Ätherextraktes bezw. einer Wasseraufschwemmung fällt weg. Man bedarf nur eines reinen Reagensglases mit der Benzidin-Eisessig-Wasserstoffsuperoxydlösung, eines sauberen Objektträgers und eines Stäbchens aus Holz oder Glas, mit dem man bei festem Stuhl am besten etwas aus der Mitte entnimmt und auf dem Objektträger ausstreicht. Man läuft nicht Gefahr, daß man evtl. durch unreine Gefäße, die Blutspuren enthalten, zu falschen Resultaten kommt. Die Probe läßt sich absolut sauber ausführen. Sie ist außerordentlich empfindlich, empfindlicher als die Adlersche Benzidinprobe oder die Modifikation nach Schlesinger und Holst. Man ist niemals im Zweifel darüber, ob die Probe positiv oder negativ ist, wie bei der Schlesinger-Holstschen Modifikation. Stets tritt entweder gar keine Verfärbung ein oder es tritt mehr oder weniger rasch ein schönes Blau auf. Grünlich oder grünblau kommt niemals vor, weil die mit Kotpartikelchen vermischte Flüssigkeit ausgeschaltet ist.

Auch Gregersen (17) kommt nach vielen Untersuchungen zu dem Resultat, daß die Modifikation von Wagner die schnellste und einfachste aller Proben ist und mit Sicherheit den Nachweis von 1 Promille Blutfarbstoff in den Faeces erlaubt. Die Einwände, die von verschiedenen Seiten u. a. von Grundmann (19), Boas (9) gegen die Benzidinprobe in der von Wagner angegebenen Form wegen ihrer zu großen Feinheit gemacht sind, konnte Gregersen nur bestätigen. Es gelang ihm aber auch, die wesentliche Fehlerquelle der früheren Methoden in der allzu starken Konzentration zu finden, mit der sämtliche Autoren die Untersuchung ausgeführt hatten (18). Er konnte zeigen, daß bei hoher Konzentration (Schlesinger-Holst und Wagner) die Benzidinprobe noch bei Anwesenheit von $^1/_{50}$ % Blutfarbstoff positiv reagierte, bei Anwendung seiner Modifikation dagegen nur bei $^1/_5$ %. Damit war für Gregersen der Weg vorgezeichnet, die Benzidinreaktion für den Haemoglobinnachweis dadurch zu rehabilitieren, daß er sie in folgender Weise modifizierte. Zunächst setzte er durch eine gewissermaßen empirische Eichung der Benzidinlösung, dieselbe auf $^1/_2$% herab. Zweitens verwendete er, statt des üblichen Eisessigs, eine 50%ige Essigsäure. Daß in letztere weit weniger Blutfarbstoff übergeht, bedarf keines besonderen Hinweises. Im einzelnen verfährt Gregersen so, daß er das Benzidin in einer Menge von 0,025 g abwiegt

und es in 5 ccm 50%iger Essigsäure löst. Als Katalysator bedient er sich statt des leicht zersetzlichen Wasserstoffsuperoxyds des haltbareren Bariumsuperoxyds, von dem er zu der genannten Lösung je 0,1 g hinzufügt. Die beiden Pulver werden getrennt in Wachspapier dispensiert. Leider zersetzt sich diese Benzidinlösung innerhalb kurzer Zeit, sodaß die Faecesuntersuchungen sehr schnell erfolgen müssen. Die Ausführung geschieht in der von Wagner angegebenen und von Gregersen übernommenen Form, d. h. auf dem Objektträger. Falls die Reaktion positiv ist, tritt mindestens nach Verlauf einer Minute — länger braucht man diese Probe nicht zu beobachten — eine grünblaue bis blaue Farbe auf.

Das Verfahren von Gregersen hat Boas (11) dahin vereinfacht, daß er beide Reagentien in Tablettenform gebracht hat. Die Mengenverhältnisse behielt Boas bei, nämlich 0,025 g und 0,1 g, die in 5 ccm einer 50%igen Essigsäure gelöst werden. Die Probe selbst stellte Boas statt auf dem Objektträger auf einem Porzellanschälchen oder auf einem kleinen quadratischen Ausschnitt von Kartonpapier z. B. einer Visitenkarte an. Bisweilen schien es ihm, als ob mit dieser angegebenen Methode die Probe schärfer und deutlicher auftrat. Das rührt vielleicht daher, daß das Benzidinpulver oft am Wachspapier anklebt und sich nicht immer quantitativ in die Essigsäure überführen läßt.

Als letzte der katalytischen Proben soll die Phenolphthalinprobe von Boas (6) erwähnt werden, die von ihm selbst 1915 verbessert wurde (8). Hiernach stellt man sich zunächst ein Phenolphthalinreagens her, das sich mehrere Wochen unverändert hält: 25 g Kal. caust. werden in 100 g Aqua dest. gelöst. Hierauf wird 1 g Phenolphtalin hinzugefügt und tüchtig geschüttelt. Nachdem Lösung eingetreten ist, wird das Ganze in einem Erlenmeyerkolben unter Zusatz von metallischem Zink erhitzt und zwar solange, bis völlige Entfärbung eintritt. Dies ist in 1—2 Stunden erreicht. Das Reagens wird nach dem Erkalten auf das ursprüngliche Volumen gebracht und filtriert. Es stellt dann eine wasserklare Lösung dar, die auch bei Zusatz von Eisessig, Wasserstoffsuperoxyd und Alkohol völlig ungefärbt bleibt. Die Blutprobe wird nun in folgender Weise vorgenommen: man stellt sich aus den zu untersuchenden Faeces einen Eisessig-Alkohol-Extrakt her (5 Tropfen Eisessig zu 15—20 Tropfen Alkohol). Von dem Phenolphthalinreagens tropft man aus einer Tropfflasche 15 Tropfen in ein Reagensglas, läßt hierzu 5—6 Tropfen 3%ige Wasserstoffsuperoxydlösung zufließen, fügt dann 2 ccm absoluten Alkohol hinzu und schüttelt gut durch. Sodann bringt man etwa die Hälfte des oben erwähnten Eisessig-Alkohol-Extraktes in einen mit gewöhnlichem Filter versehenen Trichter. Diesen bringt man so in das Reagensglas, daß das Filtrat vom

Rande her langsam die Lösung berührt. Ist Blutfarbstoff vorhanden, so sieht man je nach der Stärke des Haemoglobingehalts entweder sofort oder allmählich einen rosa oder tiefroten Ring auftreten. Bei nicht scharf erkennbarem Auftreten kann man durch Vorhalten einer weißen Unterlage (Fließpapier) den roten Ring deutlicher wahrnehmen. Boas bezeichnete diese Probe als Phenolphthalin-Ringprobe.

Der Vorzug der Phenolphthalinreaktion liegt in ihrer ungemein großen Schärfe, die es gestattet, auch minimalste Haemoglobinanwesenheit (bis 1 : 1 000 000 für wässrige Blutlösungen) festzustellen. Auch Gregersen bezeichnet diese Methode als feiner als die Benzidinprobe (17). Ein weiterer Vorteil ist, daß man es hier mit fertig hergestelltem und käuflich zu habendem Ausgangsprodukt zu tun hat. Die Nachteile der Reaktion liegen darin, daß das bei der Probe verwendete Phenolphthalin Rotfärbung geben kann (positive Reaktion), auch in den Fällen, in denen kein Blutfarbstoff vorhanden ist z. B. durch Oxydation an der Luft. Kober (21), Schirokauer (33), Grundmann (19), Gregersen (17).

Boas hat denn auch selbst von der Phenolphthalinprobe für den klinischen Gebrauch Abstand genommen (9) und schlägt in dieser Arbeit und in der folgenden (10) zwei neue Proben vor: die Chloral-Alkohol-Guajakprobe und die Thymolphthalinprobe. Boas befürwortet sie warm, da sie fein, aber nicht so fein, wie die Phenolphthalinprobe reagieren sollen.

Auf die Ausführung dieser Proben soll hier nicht eingegangen werden. An Einfachheit werden sie jedenfalls von der Gregersenschen Benzidinprobe übertroffen.

Was nun die Frage betrifft, ob durch die Oxydasen der Nahrungsmittel die Anwesenheit von Blutfarbstoff vorgetäuscht werden kann, so stimmen in der Verneinung dieser Frage Adler (1), Boas (12), Gregersen (18) und Koopmann (23) überein. Im Gegensatz zu einer Reihe anderer Autoren, Kuttner und Gutmann (24), Schlesinger und Holst (34), Rassers (30), erhielten sie nach systematisch angestellten Untersuchungen einer Reihe der hauptsächlichsten Lebensmittel stets negative Reaktionen, so z. B. bei Graupen-, Griess-, Reis-, Erbsen-, Kartoffelbrei; ferner Eiweiß, Eigelb, Mehlsuppe, Mehlsauce, Butter, Margarine, Weißbrot, Schwarzbrot, Milch, Zucker, Kakao, Rotwein, von Gemüsen: Karotten, Mohrrüben, Kohlrüben, Weißkraut, Spargel. Selbst Spinat, der häufig als besonders Blutfarbstoff vortäuschender Kotbestandteil gilt, gab bei wiederholten Untersuchungen negative Reaktion. Auch unter sehr ungünstigen Versuchsbedingungen (große Mengen oxydasenhaltiges Material in rohem Zustande, völliger Mangel an Salzsäure) bezeichnete Boas die Gefahr der Vortäuschung von Blutfarbstoff durch

pflanzliche Oxydasen als sehr gering. Die im Magen wegen Säuremangel nicht zerstörten Oxydasen werden in den weiteren Darmabschnitten derart abgebaut, daß sie mit der Benzidinprobe nach Gregersen überhaupt nicht, mit der empfindlicheren Chloral-Alkohol- bezw. Chloral-Äther-Guajak-Reaktion nur ein einziges Mal und auch hier nur sehr schwach nachweisbar waren (Boas 12). Ausgeschlossen ist natürlich die Fleisch- und Fischkost.

Die Empfindlichkeit der verschiedenen in der Literatur angegebenen katalytischen Proben variiert in weiten Grenzen. Die Guajakproben sind hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit nicht gleichwertig. Der Feinheitsgrad der Methoden nach Schumm, Kowarski, Kuttner und Gutmann und Grundmann liegt etwa bei 0,2% Haemoglobingehalt der Faeces. Die Chloral-Alkohol-Methode von Boas zeigt nach ihrem Entdecker einen Haemoglobingehalt von 0,3%, nach Gregersen einen solchen von 0,5% an. Die Aloinprobe nach Rossel gehört zu den wenigst empfindlichen Proben. Eindeutig positive Resultate gibt sie erst bei einem Blutfarbstoffgehalt der Faeces von 5%. Nach Gregersen, Adler und Lauda (25) zeigt die Phenolphthalinprobe eine Blutkonzentration von 0.02% an. Die mit konzentrierten Benzidinlösungen angestellten Proben, wie die Originalmethode von O. und R. Adler, ihre Modifikation nach Schlesinger und Holst sind sehr fein. Sie geben bei Blutkonzentrationen im Kot von 0,02% noch positive Resultate. Dagegen ist die modifizierte Objektträgermethode nach Gregersen wesentlich gröber. Sie zeigt nur einen Haemoglobingehalt von 0,2% an (Lauda 25).

Von den zahllosen katalytischen Proben, die früher in überstürzter Weise einander ablösten, sind nur zwei übrig geblieben: die Guajak- und die Benzidinprobe, beide mit ihren zahlreichen Variationen. Darüber, daß die Benzidinprobe an Empfindlichkeit weit überlegen ist, herrscht allgemeine Übereinstimmung. Bei wässrigen Blut- bezw. Haematinlösungen wird die Empfindlichkeitsgrenze für die erstere mit 1 : 200 000, für die Guajakprobe mit 1 : 50 000 angegeben.

Die Kotuntersuchungen mit Benzidin sind an sich nichts Neues. Wir finden sie in der veterinärmedizinischen Literatur genügend beschrieben z. B. von Fröhner (15), Jakob (20), Malkmus-Oppermann (26), Marek (27), Müller (28), Schmidt-Scheunert (36) und Stang-Wirth (40). Die Technik wird durchweg in gleichem Sinne und zwar in der Modifikation von Schlesinger und Holst angegeben. Neben ihr wird auch die Guajakprobe erwähnt, aber weniger empfohlen. Wetzel (43) hat so ziemlich alle bis dahin bekannten Methoden über den Nachweis von Haemoglobin im Kot untersucht und kommt zu dem Ergebnis, daß die Benzidinprobe in der von

Schlesinger und Holst angegebenen Ausführungsart bei weitem die beste und zuverlässigste sei. Gerlach (16) hat ausschließlich mit dieser Methode gearbeitet, allerdings hat er ein besonderes Verfahren angewandt, indem er die in einer bohnengroßen Kotprobe enthaltene bezw. vermutete Haemoglobinmenge als Einheit betrachtete. Hierzu fügte er jedesmal 10 ccm Wasser zur Herstellung der Reaktionsflüssigkeit. Diese Verdünnung 1 : 10 war also die Grundflüssigkeit, mit der er jedesmal die Reaktionsprobe anstellte. Mit diesem Verfahren wollte er aus dem Grad der Verdünnung und dem Zeitpunkt des Farbumschlages auf den Haemoglobingehalt Schlüsse ziehen.

Aufgabe vorliegender Arbeit soll es sein, die Benzidinprobe nach Gregersen auf ihre Brauchbarkeit in der Veterinärmedizin zu prüfen.

Eigene Untersuchungen.

Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde die Benzidin-Ausstrichprobe nach Gregersen angewandt und zwar nach der Vorschrift, wie sie E. Adler (1) angegeben hat. Nach Adler heißt es:

1. Gründlichstes Händewaschen.
2. Sorgfältigste Reinigung der zu verwendenden Gefäße mit Essigsäure und destilliertem Wasser. Es empfiehlt sich, zur Bereitung der Benzidinlösung stets dieselben Glasgefäße zu benutzen und sie nie zu anderen Zwecken zu verwenden.
3. Gelegentliche Nachprüfung der Reagentien auf Reinheit und Brauchbarkeit. Verwendet wurden die Benzidin- und Bariumperoxydpräparate von Merck.
4. Herstellung des Reagens: 0.025 g Benzidin und 0,1 g Bariumperoxyd gelöst in 5 ccm 50%iger Essigsäure.
   In einen Meßzylinder wird die abgewogene Pulvermischung unter Beachtung peinlichster Sauberkeit geschüttet und mit 5 ccm 50% iger Essigsäure übergossen, das Ganze mit einem Glasstab umgerührt, bis sich das Pulver völlig gelöst hat, was in knapp einer Minute der Fall ist. Sicherheitshalber wird das so gewonnene Reagens noch einmal filtriert, da sich zuweilen einige Kristalle des Benzidins schwer lösen, in deren Umkreis ein Tropfen von höher konzentrierter Lösung entstehen kann, wodurch die Probe ihren Wert verlieren würde. Die 0.5%ige Benzidinlösung ist ganz leicht getrübt, hell bis schwach-gelblich gefärbt.

Grün- oder gar Blaufärbung vor Anstellung der Probe beweist, daß die Bereitung nicht mit der nötigen Sauberkeit geschah. Das Reagens ist dann selbstverständlich nicht verwendbar. Die helle Färbung hält sich etwa 15 Minuten, dann färbt sich das Reagens allmählich braun- oder kirschrot.

5. Ausführung der Probe: ein etwa hanfsamenkorngroßes Kotpartikelchen wird mittels eines reinen Glasstabes aus der inneren Partie der Faeces entnommen und in dünner Schicht auf dem Objektträger, dem man ein weißes Papier untergelegt hat, ausgestrichen.

6. Mit einer Pipette werden etwa 4—6 Tropfen der gebrauchsfertigen Benzidinlösung auf den dünnen Kotausstrich geträufelt. Bei positivem Ausfall tritt je nach der Stärke des Haemoglobingehaltes mehr oder weniger rasch bezw. mehr oder weniger intensiv Blaufärbung auf.

Nach dieser Methode wurden insgesamt 2000 Reaktionen ausgeführt.

Die Probe wurde zuerst auf ihre Feinheit geprüft und zwar

1. mit frischem Pferdeblut in verschiedenen Verdünnungen.

2. mit verschiedenen Mengen Rinderkot, dem 1 Tropfen Blut (= $^1/_{16}$ g) zugesetzt wurde.

Mit dem Kot anderer Tiere wurde dieser Versuch nicht angestellt, da ohne größere Wasserzugaben eine möglichst gleichmäßige Verteilung eines Tropfens Blut sich nicht hätte erreichen lassen.

3. mit bestimmten Kotmengen, denen wässrige Blutlösungen in verschiedenen Konzentrationen zugesetzt waren unter besonderer Berücksichtigung der Zeit des Reaktionseintritts.

Bei sämtlichen Blutverdünnungen wurde Leitungswasser benutzt, das, wie wiederholte Untersuchungen gezeigt hatten, keine Reaktion gab.

Bei den Untersuchungen mit frischem Pferdeblut ergab sich, wie aus nachstehender Tabelle zu ersehen ist, ein positiver Ausfall der Reaktion bei folgenden Verdünnungen:

Tabelle 1.

1 : 1000	1 : 40 000
1 : 5000	1 : 50 000
1 : 10 000	1 : 60 000
1 : 15 000	1 : 70 000
1 : 20 000	1 : 75 000
1 : 30 000	

Erst in einer Verdünnung von 1 : 80 000 tritt keine positive Reaktion mehr auf. Wird die Blutverdünnung 1 : 1000 aufgekocht und weiter verdünnt, so fällt die Probe schon bei einer Verdünnung von 1 : 12 000 negativ aus. Durch Kochen wässriger Blutlösungen wird also die Reaktionsfähigkeit des Haemoglobins beeinträchtigt.

Die Versuche zur Feststellung der Empfindlichkeitsgrenze bei verschiedenen Mengen Rinderkot, die durch Zusatz von 5 ccm Wasser etwas breiig gemacht waren und die mit 1 Tropfen Blut (= $^1/_{16}$ g) gut gemischt wurden, hatten, wie aus Tabelle II hervorgeht, folgendes Ergebnis:

Tabelle 2.

Ein	Tropfen	Blut	mit	25 g	Kot	(+ 5 ccm H_2O)	positiver	Ausfall
„	„	„	„	30 g	„	(+ 5 ccm H_2O)	„	„
„	„	„	„	35 g	„	(+ 5 ccm H_2O)	„	„
„	„	„	„	40 g	„	(+ 5 ccm H_2O)	„	„
„	„	„	„	45 g	„	(+ 5 ccm H_2O)	„	„
„	„	„	„	50 g	„	(+ 5 ccm H_2O)	„	„
„	„	„	„	60 g	„	(+ 5 ccm H_2O)	„	„
„	„	„	„	70 g	„	(+ 5 ccm H_2O)	„	„
„	„	„	„	80 g	„	(+ 5 ccm H_2O)	schwach	pos.
„	„	„	„	90 g	„	(+ 5 ccm H_2O)	schwach pos. Ausfall	
„	„	„	„	100 g	„	(+ 5 ccm H_2O)	ganz schwach positiver Ausfall.	

Bei Zusatz von einem Tropfen Blut (= $^1/_{16}$ g) zu mehr als 100 g Kot fällt die Reaktion negativ aus.

Positiver Ausfall der Probe wird ferner erzielt bei verschiedenen Kotmengen und wässrigen Blutlösungen in verschieden starken Verdünnungen und zu verschiedenen Zeiten.

Es wurde in folgender Weise verfahren: die abgewogene Menge Kot wurde mit der bestimmten Anzahl Kubikzentimeter der Blutverdünnung gut verrührt. Von dem Gemisch wurde ein dünner Ausstrich auf einem Objektträger hergestellt und hierauf 2—4 Tropfen der Benzidinlösung geträufelt. Mit der Uhr wurde dann die Zeit bis zum Eintritt des Farbumschlags festgestellt.

Kotmengen, Blutverdünnungen, Anzahl der zugefügten Kubikzentimeter der Blutverdünnungen und die Zeit des Reaktionseintrittes sind aus nachstehender Tabelle 3 ersichtlich.

Tabelle 3.

Kotmenge:	Verdünnung:	Anzahl ccm dieser Verdünnung:	Zeit:
5 g	1 : 1000	5	200 Sek.
5 g	1 : 1000	7	120 „
5 g	1 : 1000	10	60 „
10 g	1 : 1000	10	180 „
10 g	1 : 1000	15	60 „
20 g	1 : 1000	45	60 „
50 g	1 : 1000	100	60 „
5 g	1 : 5000	40	60 „
5 g	1 : 10 000	60	60 „
5 g	1 : 20 000	140	60 „
5 g	1 : 1000 gekocht	30	120 „
5 g	1 : 1000 gekocht	100	60 „
5 g	1 : 5000 gekocht	300	60 „

In dieser Tabelle sind hauptsächlich die Proben angegeben, deren positive Reaktion in 60 Sekunden auftritt und zum Vergleich einige andere. Bei Zusatz einer geringeren Anzahl von Kubikzentimetern der Blutverdünnung bei gleicher Konzentration verzögert sich der Eintritt des Farbumschlages wesentlich (selbst bis zu 200 Sekunden); doch besteht dabei keine feste Regel.

An den dünnsten Stellen des Ausstrichs und am Rande tritt die Blaufärbung zuerst und am deutlichsten auf.

Nach Prüfung der Benzidinprobe nach Gregersen auf ihre Feinheit wurde ihre Brauchbarkeit für klinische Zwecke untersucht.

Da zu befürchten war, daß durch den Einfluß des Chlorophylls in der Nahrung die Reaktion bei der Benzidinprobe gestört werden könnte, wurden verschiedene Futtermittel daraufhin geprüft und zwar: frisches Gras, Heu, Hafer und Runkelrüben. Das Gras wurde zerrieben, das Heu 24 Stunden lang mazeriert, der Hafer gequetscht und von den Rüben wurden einige Teilchen abgeschabt. Die mit diesen so vorbehandelten Futtermitteln angestellten Benzidinproben fielen bis auf die mit mazeriertem Heu alle positiv aus. Dagegen waren sämtliche Proben negativ, wenn die Futtermittel vorher gut aufgekocht waren.

Der Kot von 25 Pferden, deren Magen-Darmkanal klinisch nachweisbar nicht erkrankt war, reagierte stets positiv. Das Futter bestand bei 11 Pferden aus Heu, Hafer, Häcksel und einigen Futterrüben; die übrigen 14 Pferde bekamen nur Heu, Hafer und Häcksel, also keine Futterrüben. Die Reaktionen waren aber stets negativ, wenn zu je 1 g Kot 25, 30 oder 40 ccm Wasser zugesetzt waren. Nur einmal fiel die Probe erst nach Zusatz von

125 ccm Wasser negativ aus. Diesem Pferde waren kurz vorher die Nasen- und Kieferhöhle trepaniert worden. Bei der Operation hatte das Tier vermutlich etwas Blut abgeschluckt.

Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei Wiederkäuern gefunden. Während der Winterfütterung (Heu, Rüben, Kleie, Sojaschrot) reagierte der Kot von 30 klinisch gesunden Rindern stets negativ, im Gegensatz zu dem der Ziegen (6 Kotproben), welcher erst in einer Aufschwemmung von 1 : 30 keinen Farbumschlag mehr zeigte. Bei Weidegang, ohne jede Beifütterung, fielen sämtliche Proben von 5 Kühen und 5 Schafen jedoch positiv aus. Diese Proben wurden erst negativ, wenn sie entweder verdünnt (bei Kühen 1 : 50, bei Schafen 1 : 150) oder aufgekocht wurden (bei Kühen 1 : 25, bei Schafen 1 : 75). Die einzelnen Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 4.

Tierart:	Kot unverdünnt und ungekocht	Verdünnung:	Reaktion ungekocht:	gekocht:
Winterfütterung.				
Rind	—	1 : 20	—	—
Rind	—	1 : 30	—	—
Ziege	+	1 : 20	+	—
Ziege	+	1 : 30	—	—
Grünfütterung.				
Rind	+	1 : 20	+	+
Rind	+	1 : 25	+	—
Rind	+	1 : 30	+	—
Rind	+	1 : 40	+	—
Rind	+	1 : 50	—	—
Schaf	+	1 : 20	+	+
Schaf	+	1 : 30	+	+
Schaf	+	1 : 50	+	+
Schaf	+	1 : 75	+	—
Schaf	+	1 : 100	+	—
Schaf	+	1 : 125	+	—
Schaf	+	1 : 150	—	—

Aus der Tabelle ist zu ersehen, daß im Verdauungstraktus des Rindes das Chlorophyll am gründlichsten zerstört wird.

Wesentlich anders waren die Resultate bei der Untersuchung von Hundekot. Bei 31 Hunden konnte einwandfrei festgestellt werden, daß die Zusammensetzung des Futters einen maßgebenden Einfluß auf den Ausfall der Probe hat.

Erhalten die Hunde haemoglobinhaltiges Futter d. h. Fleisch in irgend einer Form, so reagiert der Kot stets positiv. Wird dagegen den Tieren fleischlose Kost verabreicht, so ist der Ausfall der Probe schon in erheblich geringerer Verdünnung der Kotaufschwemmung negativ. Bei der Durchführung der Versuche wurden die Hunde in 5 Gruppen geteilt. Die Tiere sämtlicher Gruppen erhielten als Grundfutter Reis. Gruppe I ohne Zusatz, Gruppe II mit Hundekuchen, Gruppe III mit Dörrfleisch, Gruppe IV mit gekochtem Pferdefleisch, Gruppe V mit rohem Pferdefleisch.

Die Untersuchungen wurden wie bei den Versuchen bei Pferden und Wiederkäuern so vorgenommen, daß zu je 1 g Kot solange Wasser zugesetzt wurde, bis keine positive Reaktion mehr auftrat. Außerdem wurde von jeder Verdünnung 1 ccm aufgekocht und untersucht, um festzustellen, ob und um wieviel früher durch Kochen ein negativer Ausfall bewirkt wurde. Das Ergebnis ist in der folgenden Tabelle 5 zusammengestellt.

Tabelle 5.

		Kotverdünnung	
		ungekocht	aufgekocht
Gruppe I	(fleischlos)	1 : 600 (1 : 1300)*	1 : 500 (1:1200)*
Gruppe II	(Hundekuchen)	1 : 3000	1 : 2750
Gruppe III	(Dörrfleisch)	1 : 8000	1 : 6000
Gruppe IV	(gekochtes Pferdefl.)	1 : 11 000	1 : 9000
Gruppe V	(rohes Pferdefl.)	1 : 12 000	1 : 9000

* Die höheren Werte wurden bei einem räudekranken Hunde gefunden. Vermutlich hat das Tier durch Belecken der juckenden Hautpartien etwas Blut aufgenommen. Das untersuchte Futter reagierte vollkommen negativ.

Die Tabelle zeigt, daß die Grenzen, innerhalb deren die ungekochten und aufgekochten Kotverdünnungen negativ werden, sehr nahe beieinander liegen. Es besteht sogar kaum ein Unterschied, ob das Fleisch in rohem oder gekochtem Zustande gefüttert wird. Das Kochen übt also auf den Ausfall der Reaktion keinen wesentlichen Einfluß aus, da offenbar das Haemoglobin im Fleisch dadurch nicht so stark geschädigt wird wie in wässrigen Blutlösungen (vgl. S. 17).

Weiterhin wurde noch geprüft, innerhalb welcher Zeit nach Aussetzen der Fleischfütterung und bei welcher Verdünnung der negative Ausfall der Reaktion eintritt. Dies zeigt die Tabelle 6.

Tabelle 6.

	Verdünnung ungekocht	Verdünnung aufgek.
am 2. Tag nach Aussetzen der Fleischfütterung	1 : 3000	1 : 4250
am 3. Tag „ „ „ „	1 : 3000	1 : 2750
am 4. Tag „ „ „ „	1 : 1500	1 : 1200
am 5. Tag „ „ „ „	1 : 600	1 : 500
am 6. Tag „ „ „ „	1 : 600	1 : 500

Aus den Versuchen geht hervor, daß bei fleischloser Fütterung die Reaktionen in geringen Verdünnungen erst negativ ausfallen, wenn 5 Tage seit der letzten Fleischaufnahme vergangen sind. Bei Verdünnungen unter 1 : 600 ungekocht, 1 : 500 aufgekocht war der Ausfall der Probe stets positiv.

Zusammenfassung.

Die mit der Benzidinprobe nach Gregersen angestellten Untersuchungen auf ihre Feinheit hatten nachstehendes Ergebnis:

1. bei wässrigen Blutlösungen bis zur Verdünnung von 1 : 75 000 ist der Ausfall der Probe noch positiv. Erst bei einer Verdünnung von 1 : 80 000 tritt keine Reaktion mehr ein. Bei gekochten Blutlösungen liegt die Grenze bereits bei einer Verdünnung von 1 : 12 000.
2. Bei Zusatz von 1 Tropfen Blut (= $^1/_{16}$ g) zu 100 g Rinderkot tritt noch eine schwach positive Reaktion auf.
3. Werden bestimmte Kotmengen und wässrige Blutlösungen in verschiedenen Konzentrationen verwendet, dann beeinflußt die Anzahl der zu einer bestimmten Kotmenge zugefügten Kubikzentimeter Blutverdünnungen wesentlich die Zeit des Reaktionseintritts. Dabei besteht zwischen der Anzahl der verwendeten Kubikzentimeter und der Zeit des Reaktionseintritts kein festes Verhältnis.

Die Prüfung der Benzidinprobe von Gregersen auf ihre Brauchbarkeit ergibt:

1. pflanzliche Oxydationsfermente kommen als störende Faktoren kaum in Betracht.
2. Die Faeces klinisch gesunder Rinder zeigen in der Regel, die von Pferden und Ziegen schon bei ganz geringen Verdünnungen (Pferde 1 : 25, 30 oder 40, Ziegen 1 : 30) negativen Ausfall der Benzidinprobe.

3. Zu beachten ist, daß während der Grünfütterung infolge des Chlorophyllgehalts der Nahrung eine der Haemoglobinreaktion ähnliche Reaktion auftritt, die jedoch bei entsprechender Verdünnung der Probe (Rinder 1 : 50, Schafe 1 : 150) oder beim Kochen der Probe (Rinder 1 : 25, Schafe 1 : 75) in Wegfall kommt.
4. Die Faeces von Hunden reagieren stets positiv. Auch wenn die Tiere einige Tage fleischlos ernährt werden, läßt sich ein negativer Ausfall der Probe nur durch stärkere Verdünnung (mindestens 1 : 600) erreichen.

Zum Nachweis des Blutfarbstoffs in tierischen Faeces können die Reaktionen nur verwertet werden

1. bei Pferden und Wiederkäuern, wenn sie trotz Kochens oder stärkerer Verdünnung noch positiv ausfallen,
2. bei Hunden, wenn mit Sicherheit feststeht, daß die Tiere mindestens 5 Tage vor der Probe keinerlei Fleischnahrung bekommen haben. Aber auch dann ist die Zuverlässigkeit der Probe nur bedingt.

Die Benzidinprobe nach Gregersen entspricht somit den eingangs für jede Methode zum Nachweis des Blutfarbstoffs aufgestellten Bedingungen:

1. sie beansprucht keine großen Apparaturen und nur wenig Material, ist also billig,
2. sie ist rasch ausführbar, leicht zu wiederholen und leicht abzulesen,
3. sie ist zuverlässig, mit Ausnahme der Untersuchung der Hundefaeces.

Am Schluß der Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. H. Jakob für die Überweisung des Themas und die freundlichst gewährte Unterstützung meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Schrifttum.

1. Adler, E.: Über den Nachweis von okkultem Blut in den Faeces. Arch. f. Verdauungskr. Bd. 27 (1921) S. 153—190.
2. Adler, O. u. R.: Über das Verhalten gewisser organischer Verbindungen gegenüber Blut mit besonderer Berücksichtigung des Nachweises von Blut. Hoppe-Seylers Ztschr., Bd. 41 (1904), S. 59—67.
3. Alsberg: Beiträge zur Kenntnis der Guajakreaktion. Arch. f. exp. P. u. Ph. Bd. 59 (1908), S. 39—53.
4. Benedikt: Modifikation der Boasschen Blutprobe. Ref. D. m. W. 1907, S. 276.
5. Boas: Über die Diagnose des Ulcus ventriculi mittelst Nachweises okkulter Blutanwesenheit in den Faeces. D. m. W. 1903, S. 865—67.
6. Boas: Die Phenolphthalinprobe als Reagens auf okkulte Blutungen des Magen-Darmkanals. D. m. W. 1911, S. 62—64.
7. Boas: Beitrag zur Methodik und Technik der okkulten Blutuntersuchung des Magen-Darmkanals. B. kl. W. 1913, S. 154—57.
8. Boas: Eine Verbesserung der Phenolphtalinreaktion zum Nachweis okkulter Blutungen in den Faeces. D. m. W. 1915, S. 549—50.
9. Boas: Neue Beiträge zur Methodik des okkulten Blutnachweises. B. kl. W. 1916, S. 1357—61.
10. Boas: Bewertung und Kritik der katalytischen Reaktionen für den Nachweis okkulter Blutungen. Arch. f. Verdauungskr. Bd. 23 (1917) S. 283—301.
11. Boas: Über die Gregersensche Modifikation der Benzidinprobe für okkulten Blutnachweis. B. kl. W. 1919, S. 939—40.
12. Boas: Über einige neuere Methoden des okkulten Blutnachweises nebst Untersuchungen über pflanzliche Oxydationsfermente. Arch. f. Verdauungskr. Bd. 27 (1921), S. 37—63.
13. Brandenburg: Über die Reaktion der Leukozyten auf Guajaktinktur. M. m. W. (1900), S. 183—86.
14. Carlson: Die Guajakblutprobe und die Ursachen der Blaufärbung der Guajaktinktur. Hoppe-Seylers Ztschr. Bd. 48 (1906) S. 69—80.
15. Fröhner: Lehrbuch der klinischen Untersuchungsmethoden. Verlag Enke, Stuttgart. 1923. 6. Aufl. S. 310—18 und S. 384.
16. Gerlach: Kann die Benzidinprobe zur Diagnostik der Magen-Darmaffektionen der Tiere Verwendung finden? Diss. Leipzig 1929.

17. Gregersen: Untersuchung über okkulte Blutung. Arch. f. Verdauungskr. Bd. 23 (1917), S. 64—83 und S. 133—168.

18. Gregersen: Untersuchungen über okkulte Blutungen. Arch. f. Verdauungskr. Bd. 25 (1919), S. 169—195.

19. Grundmann: Über die Technik und den Wert des Nachweises von versteckten Blutungen im Mageninhalt und Kot. B. kl. W. (1916), S. 970—976.

20. Jakob: Innere Krankheiten des Hundes. Verlag Enke, Stuttgart. (1924.) 2. Aufl. S. 185.

21. Kober: Über die Phenolphthalin-Blutprobe. D. m. W. (1911), S. 1481—1482.

22. von Kociczkowsky: Beiträge zur klinischen Stuhluntersuchung. D. m. W. (1904), S. 1198—1201.

23. Koopmann: Zur Frage des Nachweises des okkulten Blutes im Stuhl. Arch. f. Verdauungskr. Bd. 27 (1921), S. 122—127.

24. Kuttner und Gutmann: Zur Methodik des okkulten Blutnachweises in den Faeces. D. m. W. (1918), S. 1265—1269.

25. Lauda: Der Nachweis der okkulten Melaena. Med. Klin (1927), S. 1713—1716.

26. Malkmus-Oppermann: Klinische Diagnostik der inneren Krankheiten der Haustiere. Verlag Jänecke, Leipzig. (1928.) 10. Aufl., S. 151.

27. Marek: Klinische Diagnostik der inneren Krankheiten der Haustiere. Verlag Fischer, Jena. (1922.) 2. Aufl., S. 486—498.

28. Müller: Die Krankheiten des Hundes. Verlag Enke, Stuttgart. (1922.) 3. Aufl., S. 46 bezw. 205.

29. Ohly: Über den chemischen Nachweis von Blut im Stuhl mittels der kombinierten Terpentin-Guajak- und Aloinprobe mit besonderer Berücksichtigung der dabei vorkommenden Fehlerquellen. D. m. W. (1909.) S. 1513—1514.

30. Rassers: Der Nachweis okkulter Blutungen des Digestionskanals. B. kl. W. 1918, S. 646—648.

31. Rossel: Beitrag zum Nachweis von Blut bei Anwesenheit anderer anorganischer und organischer Substanzen in klinischen und gerichtlichen Fällen. D. Arch. f. kl. M., Bd. 76 (1903), S. 505—519.

32. Sahli: Klinische Untersuchungsmethoden. Verlag Deuticke, Wien. (1909.) 5. Aufl., S. 580 und 614—617.

33. Schirokauer: Zur Phenolphtalinprobe auf okkultes Blut nach Boas. D. m. W. (1914.) S. 1472.

34. Schlesinger und Holst: Vergleichende Untersuchungen über den Nachweis von Minimalblutungen in den Faeces nebst einer neuen Modifikation der Benzidinprobe. D. m. W. (1906.) S. 1444—1447.

35. Schmidt — von Noorden: Klinik der Darmkrankheiten. Verlag Bergmann, München-Wiesbaden. (1921.) 2. Aufl., S. 146—148.

36. Schmidt — Scheunert: Anleitung zur mikroskopischen und chemischen Diagnostik der Haustiere. Verlag Schaper, Hannover. (1918.) 3. Aufl., S. 131.

37. Schumm: Die Untersuchung der Faeces auf Blut. Verlag Fischer, Jena. 1906.

38. Schumm und Westphal: Über den Nachweis von Blutfarbstoff mit Hilfe der Adlerschen Benzidinprobe. Hoppe-Seylers Ztschr. Bd. 46, (1905), S. 510—514.

39. Snapper: Der spektroskopische Nachweis von Blut in den Faeces. B. kl. W. (1916.) S. 975—977.

40. Stang — Wirth: Tierheilkunde und Tierzucht: Eine Enzyklopädie der praktischen Nutztierkunde. Verlag Urban-Schwarzenberg, Wien. (1929.) Bd. 6, S. 288—290 bezw. Bd. 5, S. 154.

41. Wagner: Zum Nachweis okkulter Blutungen in den Faeces. Zbl. f. Chir. (1914.) S. 1182—1184.

42. Weber: Über den Nachweis des Blutes im Magen- und Darminhalt. B. kl. W. (1893.) S. 441—444.

43. Wetzel: Experimentelle und klinische Untersuchungen über den Nachweis von Blut im Kot. Diss. Giessen 1911.

Lebenslauf.

Am 15. Februar 1901 wurde ich als Sohn des Pfarrers Otto Heim und seiner Ehefrau Martha geb. Thaler in Lemgo (Lippe) geboren. Von Ostern 1907 bis Ostern 1910 besuchte ich die Vorschule des Fürstlichen Gymnasiums zu Lemgo, von Ostern 1910 bis Ostern 1918 (Sexta bis Unterprima) das Städtische Realgymnasium zu Iserlohn und ab Ostern 1918 die Oberprima des Fürstlich Schaumburg-Lippischen Adolfinums (Realgymnasium) zu Bückeburg, wo ich am 11. September 1919 die Reifeprüfung ablegte. Ich wandte mich der Landwirtschaft zu, war als Eleve in Hannover, Thüringen und Sachsen und als Beamter in Schlesien bis zum Herbst 1927 tätig. Während dieser Zeit habe ich 3 Semester Landwirtschaft in Bonn-Poppelsdorf studiert (Winter-Semester 1924/25 bis Winter-Semester 1925/26). Seit dem Sommer-Semester 1928 studierte ich in Giessen Veterinärmedizin, wo ich im März 1930 die Vorprüfung und im Winter 1932/33 die tierärztliche Fachprüfung ablegte. Seitdem habe ich in der Medizinischen Veterinärklinik an vorliegender Dissertation gearbeitet.